

1、适用范围

适用于食品中柠檬黄、新红、苋菜红、胭脂红、日落黄、亮蓝、赤藓红等 7 种着色剂的测定（本实验用青豆为基质）

参考标准：《GB 5009.35-2016 食品安全国家标准食品中合成着色剂的测定》

2、溶液的配制

- 1) 标准储备液: 分别精确称取 7 种色素 50mg, 用 pH 为 6 的水溶解并定容到 50mL, 浓度为 1000mg/L。
- 2) 100mg/L 标准使用液: 精确移取 7 种色素 1000mg/L 单标 5mL, 用 pH 为 6 的水溶解并定容到 50mL, 浓度为 100mg/L
- 3) 乙酸铵溶液 (0.02mol/L): 称取 1.54g 乙酸铵, 加水至 1000mL, 溶解, 经 0.45 μ m 滤膜过滤。
- 4) 甲醇-甲酸 (6+4) 溶液: 量取甲醇 60 mL, 甲酸 40 mL, 混匀。
- 5) 柠檬酸溶液: 称取 20 g 柠檬酸 ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$), 加水至 100 mL, 溶解混匀。
- 6) 氨水溶液: 量取 2mL 氨水, 加水至 100mL
- 7) 无水乙醇-氨水-水 (7+2+1) 溶液: 量取无水乙醇 70mL, 氨水溶液 (6) 水 10mL, 混匀。
- 8) pH=6 的水: 水加柠檬酸溶液调节至 pH 到 6。
- 9) pH=4 的水: 水加柠檬酸溶液调节至 pH 到 4。
- 10) 提取液: 量取 100ml 乙醇, 50ml 乙腈, 混合均匀后, 量取 140ml 乙醇乙腈混合溶液, 再加入 60ml 水, 2ml 氨水。

3、提取步骤

声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

- 1) 取 2.0 g 样品, 加入 20 mL 提取液, 振荡 2 min, 40℃ 水浴超声提取 10 min, 6000 rpm 下离心 2 min, 收集上清液;
- 2) 取下层残留物, 加入 10 mL 提取液, 振荡 2 min, 40℃ 水浴超声提取 15 min, 6000 rpm 下离心 2 min, 收集上清液;
- 3) 将下层残留物用 10mL 提取液, 按照步骤(2)重复提取一次, 合并三次上清液;
- 4) 将上清液在 40℃ 水浴条件下, 减压蒸至约 15 mL, 再加入 3 mL 甲酸混匀, 待净化。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱: 月旭 Welchrom®PA 规格: 1000 mg/6mL。

活化: 5 mL 甲醇、5 mL 水, 5 mL pH=6 的水, 弃去;

上样: 待净化液全部上样, 控制流速, 不宜过快, 弃去;

淋洗: 10 mL pH = 4 的水, 20 mL 甲醇-甲酸 (6+4) 洗去天然色素, 10 mL pH=7 的水洗至中性, 弃去

洗脱: 15mL 无水乙醇-氨水-水 (7+2+1) 溶液, 收集于蒸发皿中, 抽干

将洗脱液置于 80 °C 水浴挥干, 用水定容至 5 mL, 过 0.45µm 水膜, 上机测定。

5、注意事项

1)加标水平: 2g 样中, 分别加入 0.1mL 100mg/L 混标, 最终定容到 5mL, 因此加标水平分别为 5mg/kg。

最终机读数为 2mg/L, 流动相用水定容。

2)GB5009.35-2016 中赤藓红没有采用 PA 吸附的方法, 因赤藓红在 PA 柱上的吸附性很小, 在淋洗过程就会被大部分洗下来。

3)因为提取液是碱性的, 为了更好的保证小柱对合成着色剂的吸附, 加 3mL 甲酸, 使样液呈酸性

SPE 净化过程, 控制流速, 建议 1mL/min 左右 (PA 小柱可适当抽真空或加正压)

声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

4)最后上机前，选用水系滤膜进行过滤



左图为上样，

右图为洗脱

6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate®XB-C18 4.6×250mm,5μm

流动相：A-0.02mol/L 乙酸铵溶液，B-甲醇（梯度见下表 1）

流速：1.0mL/min

柱温：30℃

进样量：20μL

检测波长：245nm

表1：液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	0.02 mM 乙酸铵溶液/%	甲醇/%
0	95	5
10	80	20
18	20	80
25	20	80
25.1	95	5

声明:除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编：321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

7、色谱图或者加标回收率结果

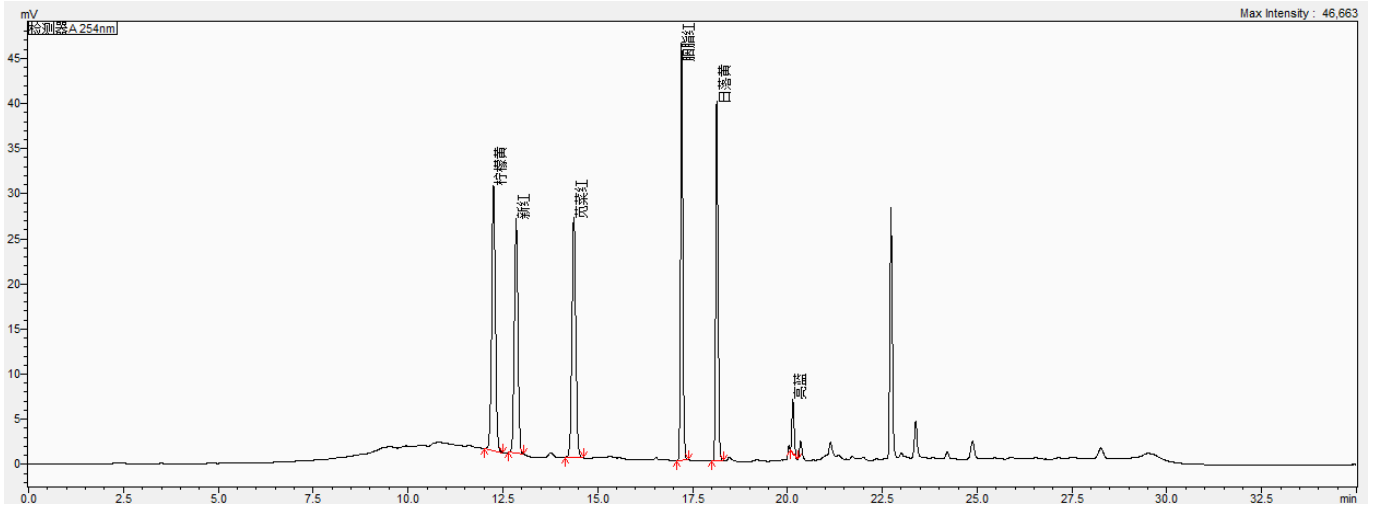


图 1.合成着色剂混标 2mg/L 图谱

序号	峰名称	保留时间	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	分离度	塔板数
		min	mAU*	mAU	%		(EP)	(EP)
1	柠檬黄	12.254	201437	29337	21.222	1.033	--	65455
2	新红	12.850	171268	25991	18.044	1.035	3.160	76678
3	苋菜红	14.372	191451	26601	20.170	1.042	7.894	82606
4	胭脂红	17.210	192890	46184	20.322	1.187	17.362	294274
5	日落黄	18.139	168899	39870	17.794	1.174	7.284	320227
6	亮蓝	20.145	23234	6084	2.448	1.200	16.279	464739

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

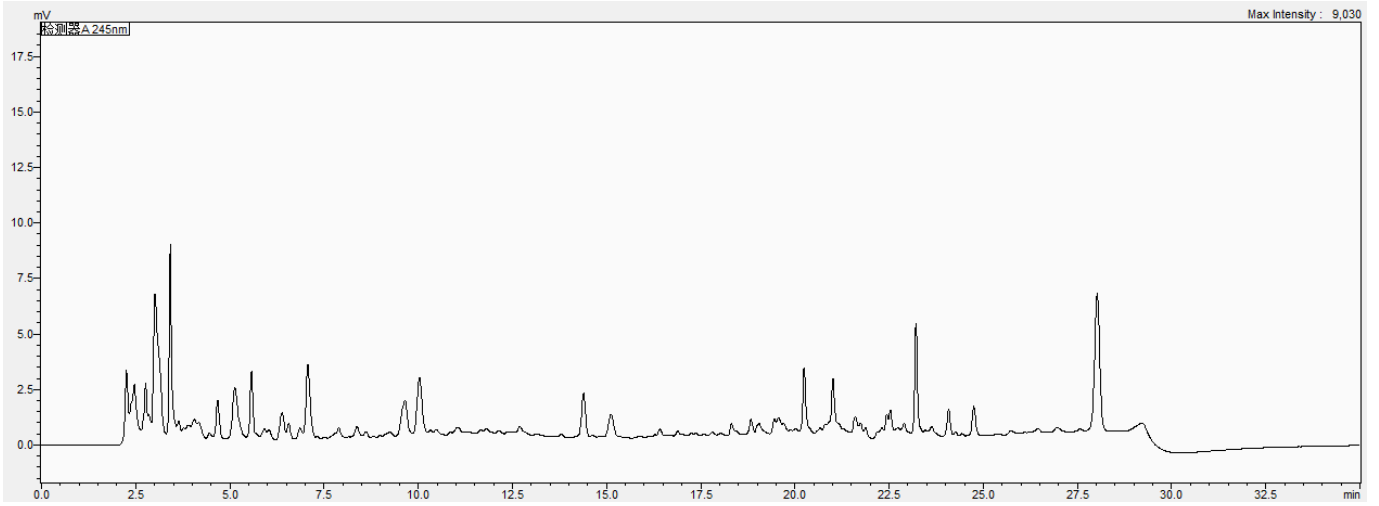


图 2 青豆样品图谱

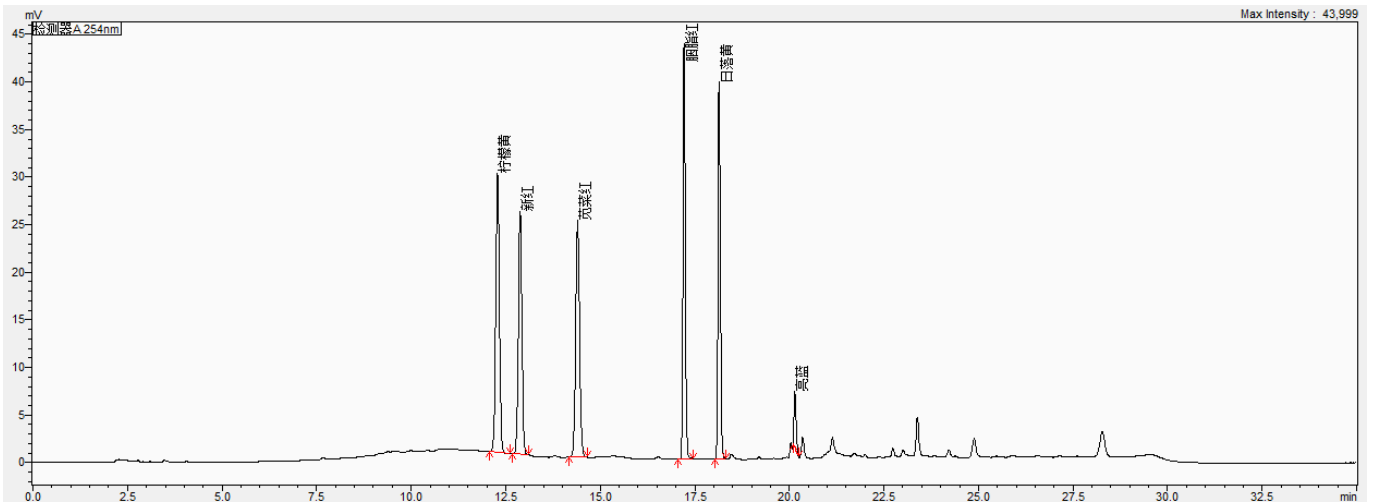


图 3 青豆样品加标过图谱

表 2 加标回收表

PA	名称	加标水平 mg/kg	回收率%		平均回收率%	RSD% (n=2)
1	柠檬黄	2	99%	98%	98%	0.86%
2	新红	2	98%	97%	98%	0.57%
3	苋菜红	2	93%	94%	94%	0.26%
4	胭脂红	2	95%	96%	96%	0.65%
5	日落黄	2	99%	99%	99%	0.11%
6	亮蓝	2	95%	100%	98%	3.86%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00522-20009	SPE 小柱	Welchrom®PA,1000mg/6ml
00000-30016	50mL 螺口尖底离心管	50 支/包
00824-31001	Welch 固相萃取装置	12 位方缸
00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2ml 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-31043	液相色谱柱	Ultimate® XB-C18, 4.6×250mm,5µm
00826-T446P250	柠檬黄标准品	CAS No.:1934-21-0, 250mg
C15506000	新红标准品	CAS:220658-76-4
00826-A386P250	苋菜红标准品	CAS:915-67-3, 250mg
00826-P732P100	胭脂红标准品	CAS:2611-82-7, 100mg
00826-S184P100	日落黄标准品	CAS:2783-94-0, 100mg
00826-A632P250	亮蓝标准品	CAS:3844-45-9, 250mg
00826-E202P250	赤藓红标准品	CAS:16423-68-0, 250mg
00803-01102	微孔滤膜	进口 MCE 50mm*0.45µm 200pk

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编:321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com